

SELEÇÃO PRELIMINAR DE ISOLADOS DE *Metarhizium anisopliae* PARA O CONTROLE MICROBIANO DE *Tibraca limbativentris*

Fátima T. Rampelotti⁽¹⁾, Maria Laura T. Mattos⁽²⁾, Anderson D. Grützmacher⁽¹⁾, José F. da S. Martins⁽³⁾, Honório F. Prando⁽⁴⁾. ¹DFsFAEM/UFPel, e-mail: frampelotti@terra.com.br, Pelotas, RS, ²Embrapa/CPACT, Pelotas, RS, ³Embrapa/CNPAF, Goiânia, GO, ⁴Epagri, Itajaí, SC.

O fungo *Metarhizium anisopliae* é citado na literatura como importante patógeno para o controle de insetos, visto que apresenta ampla distribuição e ocorrência nas diferentes regiões do mundo, causando enzootias e epizootias para populações de insetos incidentes em regiões distintas quanto ao clima, topografia, e disponibilidade de recursos (Alves, 1998).

A ocorrência natural de doenças, nos insetos, causadas por fungos, pode indicar a adaptabilidade do patógeno diante dos fatores bióticos e abióticos presentes no meio, bem como a distinção de um isolado de importância para utilização no controle microbiano de populações de insetos-praga. Em contrapartida a consulta aos bancos de germoplasma de fungos entomopatogênicos podem fornecer subsídios para se testar a virulência de isolados de uma espécie, com histórico de incidência no controle microbiano de um inseto-praga de interesse.

O percevejo-do-colmo *Tibraca limbativentris* (Hem.: Pentatomidae), apresenta ampla distribuição dentro do território brasileiro, sendo sua ocorrência como praga é relatada nos diferentes sistemas de cultivo do arroz, sob condições climáticas e topográficas bastantes distintas (Prando et al., 1993; Martins et al., 2004a). Da mesma forma, isolados de *M. anisopliae* desses locais encontram-se indexados em bancos de germoplasma (Sicol, 2005).

O presente trabalho foi realizado, visando avaliar a virulência de cinco isolados de *M. anisopliae* armazenados em meio artificial de cultivo ágar batata dextrose (BDA) do banco de cepas do Laboratório de Microbiologia de Solos da Embrapa Clima Temperado, sobre adultos de *T. limbativentris*.

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Microbiologia de Solos da Embrapa Clima Temperado no período de março a abril de 2005, utilizando-se um delineamento experimental inteiramente casualizado com seis tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram: 1) testemunha (água + Tween 80 0,01%); 2) isolado CG 167; 3) CG 144; 4) CG 041; 5) CG 835; e, 6) CG 891. Para cada isolado foi preparada uma suspensão de aproximadamente, 10^8 esporos mL⁻¹ em água estéril com Tween 80. A padronização das suspensões foi realizada com auxílio da contagem em câmara de Neubauer.

Cada unidade experimental constou de uma placa de petri (12 cm de diâmetro) com papel filtro umedecido em água destilada e cinco adultos de *T. limbativentris*, os quais receberam a aplicação individual, na parte dorsal (sobre o escutelo), de 10 µL de respectiva suspensão fúngica, ou água com Tween (testemunha). Após a aplicação dos tratamentos, os insetos foram colocados e suas respectivas unidades experimentais e incubados a 27 °C com 12 horas de fotofase. A umidificação foi garantida pela vedação da placas com papel filme. Um teste de viabilidade dos conídios foi realizado, 100 µL de uma suspensão de conídios diluída foi inoculada em placas com meio BDA e estas incubadas por 24 horas nas mesmas condições descritas acima.

As avaliações foram realizadas até os 21 dias após a aplicação dos tratamentos. Estas constaram da observação do número de insetos mortos e contaminados pelos diferentes isolados de *M. anisopliae* em teste, através da incubação dos insetos mortos em câmaras úmidas, para observar a exteriorização de fungos. Esses valores foram submetidos a análise estatística com teste de Duncan 1%.

O isolado CG 891, proveniente de adultos de *T. limbativentris* de Santa Catarina, atingiu controle superior a 70% aos 15 DAT. Ficou, entretanto, evidenciada a baixa eficiência dos demais isolados testados com controle inferior a 50%, sendo observado um retardamento do tempo para o controle pelos fungos (Tabela 1). Fatores relacionados a fisiologia e etologia dos insetos atuam impedindo a ação de organismos entomopatogênicos, como os fungos. A baixa infecção observada nesse ensaio pode estar relacionada com a perda da virulência dos isolados testados

sobre os insetos, já que a viabilidade sobre meio BDA foi alta, cerca de 90% para CG 144, CG 891, CG 835 e CG 167 e 80% para CG 041. Segundo Alves (1998) a perda da virulência de fungos entomopatogênicos pode ser observada após seis repicagens em meio artificial, ou seja, o armazenamento desses microrganismos deve obedecer a uma rotina de repasses sobre insetos alvos, no intuito de manter ativos genes que expressam enzimas e processos fisiológicos utilizados pelo microrganismo no desenvolvimento do processo infeccioso.

Tabela 1. Adultos de *Tibraca limbativentris* mortos e contaminados por diferentes isolados de *Metarhizium anisopliae* aos 15 dias após o tratamento, Pelotas, RS, 2005:

Tratamentos	Média de insetos contaminados (%)
1- Testemunha	0 a ¹
2 - CG 167	23 ab
3 - CG 144	37 b
4 - CG 041	43 b
5 - CG 835	30 b
6 - CG 891	73 c

¹Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 1%.

Martins et al. (2004b) relataram que a baixa eficiência de isolados de *M. anisopliae* sobre *T. limbativentris* em condições de campo pode decorrer da resistência natural dos insetos em algumas fases do ciclo de vida. Os autores citam, ainda, que insetos pré-dispostos a hibernação são mais resistentes que aqueles de primeira geração anual. Rampelotti et al. (2003) avaliaram o isolado CG 891 para controle de adultos e ninfas de *T. limbativentris* de primeira geração observando um TL₅₀ de 11 e 7 dias, respectivamente. A maior suscetibilidade das ninfas em relação aos adultos estaria relacionada à menor espessura da cutícula das ninfas e a maior vulnerabilidade do imaturo nas ecdises, favorecendo assim, a entrada de patógenos. Sosa-Gomez et al. (1997) citam que compostos químicos presentes na cutícula dos pentatomídeos, podem atuar como agentes fungistáticos e, também, impedindo os processos de adesão e germinação dos esporos sobre o tegumento do inseto.

Além desses fatores relacionados ao inseto, cabe considerar que a baixa virulência dos isolados sobre o percevejo-do-colmo, neste trabalho, estaria relacionada à concentração de conídios utilizada na aplicação que não foi suficiente para garantir o sucesso do fungo frente as barreiras físicas e imunológicas do inseto. A alta diversidade existente entre isolados de *M. anisopliae*, também, pode ter sido um fator importante no processo infeccioso, visto que os isolados utilizados são, em sua maioria, provenientes de regiões distintas àquelas de onde os insetos foram coletados, ou seja, esses podem não apresentar características adaptativas para determinado hospedeiro, sendo sua eficiência maior ou menor dependendo da origem dos insetos. De acordo, com Alves (1998) os fungos entomopatogênicos apresentam baixa especificidade, no entanto o grau de virulência observado para esse grupo de microrganismos está relacionado à sua ocorrência em determinada região, ou sobre determinado hospedeiro, caracterizando assim isolados com especificidade para o controle de uma determinada espécie.

Os fatores bióticos e abióticos atuam sobre os organismos de modo a favorecer aqueles mais adaptados ao meio, dessa forma respostas diferentes para o controle microbiano de insetos dependem da seleção de isolados de fungos entomopatogênicos.

Os resultados do presente trabalho indicam que há diferenças significativas de virulência entre os isolados de *M. anisopliae* testados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, S.B. (ed.). **Controle microbiano de insetos**. 2 ed., FEALQ: Piracicaba, 1998. 1163p.
 MARTINS, J. F. da S.; GRÜTZMACHER, A.D.; CUNHA, U.S. da. Descrição e manejo integrado de insetos-praga em arroz irrigado. IN: GOMES, A. da S.; MAGALHÃES JR, A.M. de (ed.)

Arroz Irrigado no Sul do Brasil. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, 2004a. cap.19. p.635-675

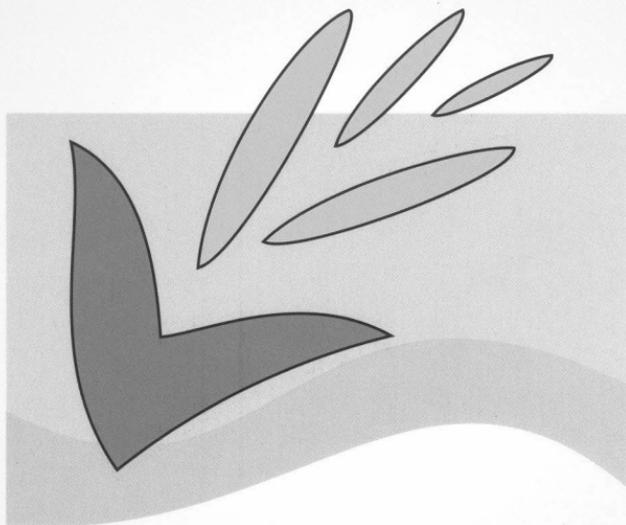
MARTINS, J.F. da S. et al. Eficiência de *Metarhizium anisopliae* no controle do percevejo-do-colmo *Tibraca limbativentris* (Heteroptera: Pentatomidae) em lavoura de arroz irrigado. **Ciência Rural**, v.34, n.6. p.1681-1688. 2004b.

PRANDO, H.F.; KALVELAGE, H.; FERREIRA, R.A. Ciclo de vida de *Tibraca limbativentris* Stal, 1860 (Hemiptera: Pentatomidae) em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.37, n.2, p.335-339. 1993

RAMPELOTTI, F.T.; PRANDO, H.F.; WEBER, L.I. Determinação do tempo letal do isolado Ep TL01 do fungo *Metarhizium anisopliae* sobre adultos e ninfas de *Tibraca limbativentris*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 3.; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 25., 2003, Balneário Camboriú. **Anais**. Itajaí: Epagri, 2003. p.421-423

SICOL – Sistema de Informação de Coleções de Interesse Biotecnológico. Disponível em: <http://sicol.cria.org.br/cv>. Acesso em: 22 de março de 2005.

SOSA-GOMEZ, D.R. et al. Attachment of *Metarhizium anisopliae* to the southern green stink bug *Nezara viridula* cuticle and fungistatic effect of cuticular lipids and aldehydes. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.69, n.1, p.31-39, 1997.



**IV Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado
XXVI Reunião da Cultura do Arroz Irrigado**

“NOVOS CAMINHOS PARA A PRODUÇÃO
DE ARROZ IRRIGADO NO BRASIL”

9 a 12 de agosto de 2005

**Park Hotel Morotin
Santa Maria-RS**

Anais

Volume II